With the authors' compliments

寺　下　隆　喜　代
陳　野　好　之

植物病原菌におよぼす木醋液の影響

Takakiyo TERASHITA and Yoshiyuki ZINNO:

Fungicidal Effects of Pyroligneous Acid.

林業試験場研究報告第96号別刷
Reprinted from
BULLETIN OF THE GOVERNMENT FOREST
EXPERIMENT STATION No. 96.
Tokyo, Japan
March 1957

植物病原菌におよぼす木酢液の影響

寺 下 隆 喜 代[(1)]
陳 野 好 之[(2)]

1. はしがき

最近，野原その他[4)]は針葉樹の子苗の立枯病の予防に木酢液が有効なことを報告した。外国でもDORAN[1)]はテンサイ，キウリ，チサなどの立枯病の予防に木酢液がきいたことを報告している。しかし，1955年2月，東京でおこなわれた林業試験場保護関係の業務報告会で，北海道あるいは山形県下の試験では木酢液の効果がみとめられなかつたとの報告があつた。筆者らはこれらの実験結果の相違に興味をもつたが，木酢液の立枯病予防効果いかんを論ずるにはまだ多くの基礎的データが必要とおもわれた。したがつてその一つとして，まず木酢液を殺菌剤と仮定し，どの程度の殺菌力をもつているか，いかなる成分が殺菌作用に関係するかなどについて2・3の実験をおこなつた。土壌病害の発生，消滅に殺菌剤が関与するところはかぎられた範囲であるといわれ，木酢液が立枯病を防除した場合でも，それがはたして殺菌剤として働いたのかどうかも疑問ではあるが，ここに実験結果のあらましを報告する。

なお，木炭材料たる樹種の相違，製炭法，木酢液の採取法の相違などが木酢液の性状，ひいてはその防除効果に影響があつたのかもしれないが，本実験では効果のあつたものとほぼ同条件で採取した木酢液をもちいた。また，本稿において揮発成分，沈澱成分，溶解成分などとしたのはいずれも常温，無処理の場合のものをさすことをはじめにことわつておく。

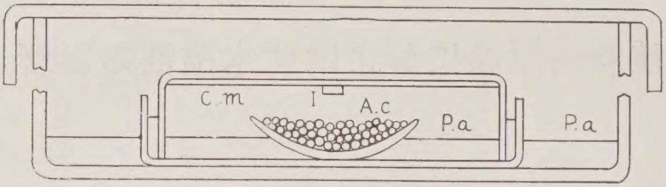
本研究をおこなうにあたり，山口県県営苗畑，仙台営林署，長野営林署，および林業試験場各支分場から実験材料を送つていただき，林業試験場林産化学部杉浦技官に木酢液の酸量の測定をお願いした。ここにこれらの諸氏にたいして深謝の意を表する。また林業試験場保護部長今関技官，同樹病研究室長野原技官から種々御指導，御鞭撻をいただいた。あわせて厚く御礼申し上げる。

2. 方法

a. 植物病原菌の菌糸にたいする木酢液の揮発成分の影響

常法によつて植物病原菌菌糸の inoculum をペトリ皿中の寒天培養基に接種後，皿を直ちに逆さにし，″蓋″と″底″とのすきまから木酢液を少しずつ流しこんだ。木酢液が″ふた″の内側一面にひろがつた場合，その揮発成分が inoculum に充分作用するものとみなした。木酢液の所要量は一皿あたり 10〜15 *cc* であつた。以上の処理をしたペトリ皿をさらにガラス容器中におさめ，ガラス容器を密封した。このガラス容器中にもペトリ皿にもちいたものと同じ濃度の木酢液を入れ，その揮発成分が容器内全体をおおうようにした（第1図）。木酢液の処理濃度区分は，原液区，1/5，1/25，1/125 濃度の各区であつた。コントロールには殺菌蒸溜水をもちいた。なお，ペトリ皿の総数の半分には，その内部に木酢液とともに活

(1) (2) 保護部樹病科樹病研究室員



C.m ……培　　地　Culture medium.
I ……イノキユラム　Inoculum.
A.C. ……活　性　炭　Grains of activated carbon.
P.a ……木　醋　液　Pyroligneous acid.

第1図　木醋液の揮発成分の効果をしらべた場合の方法

Fig. 1 The method to test vapor action of pyroligneous acid and 2.86 % acetic acid, upon the mycecial development of some plant pathogens.

性炭を入れて，木醋液の揮発成分を吸収させ結果を比較した。活性炭の所要量はペトリ皿あたり約1*g*で，これを時計皿に入れ，木醋液の注入に先だち，この時計皿をペトリ皿中に入れた。また，実験につかつた木醋液の酸量が2.86%であつたので，対照薬剤として2.86%の醋酸水溶液をもちい，上述したものと同様の実験をおこなつた。以上のべるすべての実験もそうであるが，実験温度は 24～26°C の範囲，データは1処理区3枚，2回反復の平均である。

b.　沈澱成分の殺菌力

東洋沪紙 No. 1 をもちいて木醋液を吸引沪過し，沪紙上の沈澱物をデシケーター内で24時間乾燥させた。これをすりつぶし，2 *mm*角の植物病原菌菌糸の inoculum に充分まぶした。24時間後この inoculum を新らしい寒天培養基に接種し，3日後発育の有無を調査した。なお沈澱物をそのまま乾燥させたもの，充分水洗後乾燥させたものの2つの場合について実験し，また対照薬剤としてセレサン，木炭を粉にしたもの，カオリーンの3つを使用した。

c.　植物病原菌の分生胞子の発芽におよぼす影響

スライド•グラス法により，木醋液中で2•3の植物病原菌の分生胞子の発芽実験をおこない，6時間後の発芽率を調査した。木醋液の濃度区分は原液区，1/5，1/25，1/125 濃度区とし，コントロールには殺菌蒸溜水をもちいた。

d.　植物病原菌の菌糸を木醋液中に漬けた場合の影響

ペトリ皿中の植物病原菌の菌叢の新鮮な部分を直径 1 *cm* の円盤状に切りぬき，木醋液中に24時間浸した。この処理後充分水洗し，あたらしい寒天培養基に移植し，3日後，菌糸の発育の有無を調査した。なお，予備実験の結果によれば，この期間にのびはじめなかつた菌は，その後においてものびることはなかつた。木醋液の濃度区分は原液区，1/5，1/25，1/125 濃度区で，コントロールには殺菌蒸溜水をもちいた。

e.　ZENTMYER 氏法中の Drench 法の変法

底に小穴をあけた高さ 8*cm*，内径 2*cm* のガラス管びんを用意し，底に脱脂綿をしき，20メツシュ以下の風乾土壤を一定量入れた。これを高圧蒸気で殺菌し，土壤表面に円盤状に切つた植物病原菌の菌糸をおいた。この菌糸は (d) にのべた方法によつて用意した。この菌糸の上に別に用意した殺菌土壤を一定量入れ，さらにその上から木醋液を注いだ。木醋液の所要量は1ガラス管びんあたり 5*cc* であつた。以上の処理をし24時間静置した後，菌糸をとり出し，殺菌蒸溜水でよくあらつた上，あたらしい寒天培養基に移植した。3日後菌糸の発育の有無を調査した。1ガラス管びんあたりの土壤の量は，管びん中で厚さが 2 *in*

になることを基準としたが,東京の目黒の土壌では約16gであつた。そして菌糸の深さが土壌表面から0.25, 0.5, 1.0, あるいは 2.0 in になるように,菌糸の上あるいは下に入れる量を調節した。ZENTMYER[7] の原法とことなるところはガラス管びんの底に小穴をあけたことである。原法では管びんそのままをつかつているが，これでは土壌によつては，木醋液を注いだ場合，土壌中の空気の逃口がなくなり，液の滲透がよくないことが多かつた。筆者らは上述の改造によつてこのような障害をとりのぞくことができた。木醋液の原液，1/5, 1/25 濃度のものにつきそれぞれ実験した。

3. 材　　料

a. 使　用　菌

菌糸をもちいる実験では，すべて次の3菌をもちいた。

Fusarium oxysporum

立枯病をおこしたルーピンの根から分離された系統で，九州大学植物病理学研究室から分譲されたものである。

Rhizoctonia solani (AM-1)

立枯病をおこしたアオトドの子苗から分離された系統で，比較的病原性がつよい。

Rosellinia necatrix. (R-1)

チヤから分離された系統で病原性が強いといわれている。西京大学植物病学研究室から分譲された。

分生胞子の発芽実験には次の3菌をもちいた。

Alternaria kikuchiana

Cochliobolus miyabeanus

いずれも殺菌剤の検定によくもちいられる菌であるが農業技術研究所病理科から分譲された系統である。

Fusarium sp. (LK-18)

立枯病をおこしたカラマツから分離された菌で，大型分生胞子だけを多量に形成し，またその形がとくに大きく見分けやすい。

b. 木醋液の処理区分

(2) の (c) および (d) の場合には，木醋液そのもののほか，それを次のように処理して実験にもちいた。

イ，沪過：　ベルケフエルド式細菌沪過器で沪過し，沪出した液を実験に供した。そしてこの液を常温における溶解成分とみなした。

ロ，pH の規正：　5N の NaOH をもちい，木醋液の pH を 5.0 および 7.0 とした。

ハ，水蒸気蒸溜：　200 cc の木醋液を約5時間水蒸気蒸溜し，残液を実験に供した。

ニ，土壌沪過：　内径 2cm の試験管の底に穴をあけ，脱脂綿をしき，20 メツシュ以下の風乾土壌を入れた。上から木醋液を注ぎこみ，底からにじみ出る液の最初の 5cc を採取して実験に供した。使用した土壌の量は試験管中で厚さが 1 あるいは 2 in になる量であつた。

4. 結　　果

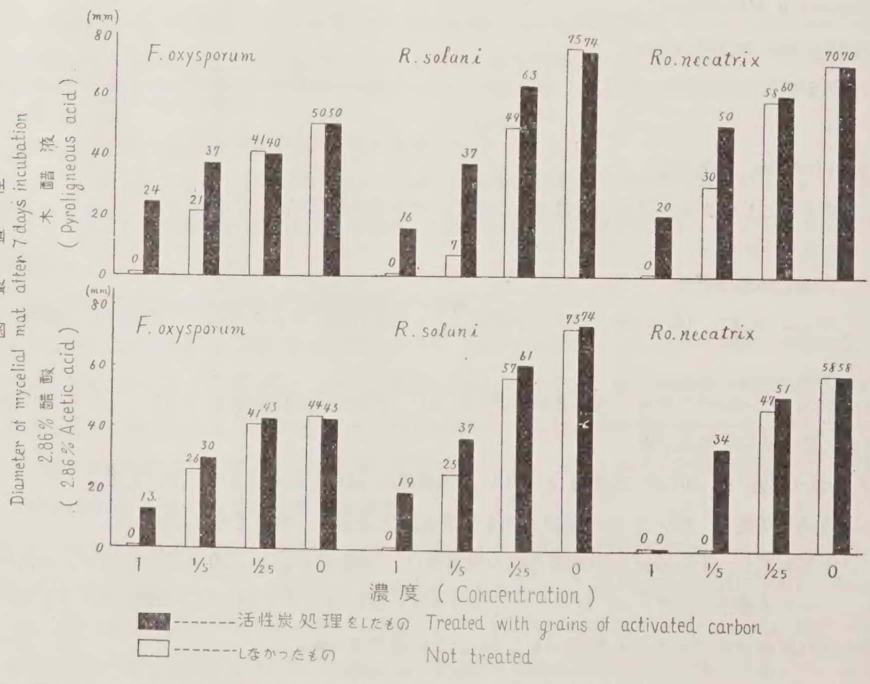
a. 木酢液の揮発成分が菌糸の発育におよぼす影響

木酢液の揮発成分は供試菌菌糸の発育に阻害作用をしめし，原液の揮発成分を作用させた場合では，3菌ともほとんど発育しなかつた。木酢液をうすめてゆくにつれて発育阻害作用もだんだん少なくなつたが，1/25濃度区では，3菌の菌叢ののびはコントロールの7～8割であつた。また，揮発成分を吸着させる目的で活性炭処理をした場合には，菌叢ののびは以上の結果より多少よくなつていた。そして，木酢液の濃度が高い場合ほど，活性炭の影響がより明らかな傾向をしめした（第2図）。

対照薬剤として2.86%の醋酸水溶液を原液とし，同様な実験をおこなつたところ，木酢液の場合とほぼ同じ結果をしめした。すなわち，原液区では3菌ともほとんど発育せず，濃度をうすめるにしたがつて多少発育がよくなつた。また，活性炭処理の影響も木酢液の場合とほぼ同程度であつた。

b. 木酢液の沈澱成分の殺菌力

木酢液の沈澱成分をそのままかわかし，菌糸にまぶした場合，供試3菌とも発育しなかつた。しかし，沈澱成分を充分水洗し，水にとける成分を除いてかわかし，菌糸に作用させた場合には，3菌ともなんら支障なく発育した。以上の結果から，木酢液の沈澱成分には殺菌力が全くないこと，さらに，殺菌力は水に溶解する成分にふくまれていることが分つた。対照薬剤にカオリーン，あるいは粉化した木炭を使用したのは，菌糸に粉末状態のものをまぶすことが，その発育に影響をあたえるかどうか知るためであつた（第1表）。



第2図　木酢液および2.86%醋酸水溶液の揮発成分が植物病原菌菌糸の発育におよぼす影響

Fig. 2　Effects of vapor of Pyroligneous acid and 2.86% acetic acid upon the mycelial development of some plant pathogens.

第1表　木醋液の沈澱成分が植物病原菌菌糸の発育におよぼす影響

Table 1. Effect of sediment of Pyroligneous acid on the mycelial development of *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Rosellinia necatrix*.

処理別 Treatment		菌糸の発育 Development of mycelia		
		F. oxysporum	*R. solani*	*Ro. necatrix*
木醋液の沈澱成分 Sediment of Pyroligneous acid	水洗しないもの Not washed	—	—	—
	よく水洗したもの Well washed	+	+	+
対照薬剤 Control	セレサン Ceresan	—	—	—
	カオリーン Kaolin	+	+	+
	粉末状木炭 Charcoal, crushed	+	+	+

+……菌糸が発育したもの　Mycelia well developed.
—……菌糸が発育しなかつたもの　Mycelia not developed.

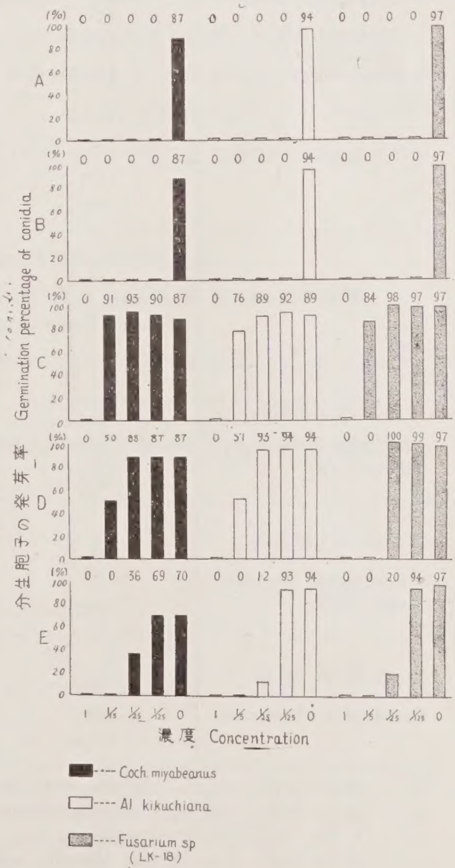
A：そのままの木醋液
Crude Pyroligneous acid (P. a.).

B：沈澱物を除いた木醋液
Sediment-free P. a.

C：中性にした木醋液
Neutralized P. a.

D：2インチの土壌をとおした木醋液
Filtered P. a. throuth soil (2 *in*).

E：水蒸気蒸溜した木醋液の残液
Residual liquid of P. a. distilled with steam.



第3図　植物病原菌の分生胞子の発芽におよぼす木醋液の影響

Fig. 3　Effects of Pyroligneous acid upon the germination of conidia of some plant pathogens.

c.　植物病原菌の分生胞子の発芽におよぼす木醋液の影響

Co. miyabeanus, *Al. kikuchiana* および *Fusarium* sp. (LK-18) の分生胞子を木醋液中あるいは種々の処理をした木醋液中で発芽させた場合，第3図のような結果をしめした。無処理の木醋液あるいは沈澱成分を除いた木醋液では1/125の濃度でも3菌ともまつたく発芽しなかつた。充分水洗した木醋液の沈澱成分には殺菌力がないことは前述したところであるが，本実験の結果も木醋液そのものの殺菌力と

第2表　植物病原菌の菌糸の発育におよぼす木醋液の影響

Table 2. Effects of pyroligneous acid on the mycelial development of *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Rosellinia necatrix*.

木醋液の処理別 Treatment for Pyroligneous acid	濃度 Concentration	菌の発育 Development of mycelia		
		F. oxysporum	*R. solani*	*Ro. necatrix*
無処理 Untreated	1	—	—	—
	1/5	—	—	—
	1/25	±	—	—
	1/125	+	+	+
細菌沪過器で沪過 Filtered with BERKEFELD filter tube	1	—	—	—
	1/5	—	—	—
	1/25	+	—	—
	1/125	+	+	+
pH 5	1	—	—	—
	1/5	+	—	—
	1/25	+	+	—
	1/125	+	+	+
pH 7	1	—	—	—
	1/5	+	+	—
	1/25	+	+	+
	1/125	+	+	+
1 *in* の土壌通過 Percolated through soil (1 *in*)	1	—	—	—
	1/5	+	—	—
	1/25	+	+	—
	1/125	+	+	+
2 *in* の土壌通過 Percolated through soil (2 *in*)	1	—	—	—
	1/5	+	—	—
	1/25	+	+	+
	1/125	+	+	+
水蒸気蒸溜 Distilled with steam	1	+	+	—
	1/5	+	+	+
	1/25	+	+	+
	1/125	+	+	+

+……菌糸が発育したもの　Mycelia well developed.

±……菌糸が発育した場合もしなかつた場合もあつたもの　Mycelia not developed, but some times developed.

—……菌糸が発育しなかつたもの Mycelia not developed.

沈澱成分を除いたものの殺菌力がほぼひとしいことをしめしている。しかし，pH を規正し，中性にした木酢液は，殺菌力が著しく減退し，3菌とも 1/5 の濃度でよく発芽した。しかし，原液では3菌ともまつたく発芽しなかつた。なお，pH の規正にもちいた NaOH 水溶液によつて木酢液は原液区で約10%容積が増加した。しかし，容積増加率は1/5，1/25濃度区とうすくなるにつれて等比級数的に低下する。したがつて，NaOH 水溶液によつて木酢液がうすめられた影響は無視してもよいと思う。2 *in* の厚さの東京地方の土壌の層を通過した木酢液もかなり殺菌力が減退し，3菌とも 1/25 の濃度ではよく発芽した。しかし，1/5の濃度では *Fusarium* sp. (LK-18) は発芽せず *Co. miyabeanus*, *Al. kikuchiana* もそれぞれ約半数だけが発芽した。水蒸気蒸溜をおこなつたあとの木酢液も殺菌力が減退し，1/125 の濃度では，3菌ともよく発芽した。しかし，pH を7に規正，あるいは土壌中を通した場合にくらべれば，減退の仕方がすくなく，1/5の濃度では3菌ともまつたく発芽せず，1/25の濃度では *Co. miyabeanus* は36%，*Al. kikuchiana* は12%，*Fusarium* sp. (LK-18) は 20%の発芽率をしめしたにすぎない。

d. 菌糸を木酢液中に漬けた場合の影響

F. oxysporum, *R. solani* および *Ro. necatrix* の菌糸を1昼夜，木酢液あるいは種々の処理をした木酢液中にひたし，その生死を鑑別した実験では第2表のような結果をしめした。

無処理の木酢液および沈澱成分を除いた木酢液はほぼ同じ程度の殺菌力をしめし，*R. solani* および *Ro. necatrix* を 1/25 の濃度で，*F. oxysporum* を 1/5 の濃度で完全に殺した。また pH を5あるいは7にした場合，1 *in* あるいは 2 *in* の厚さの土壌を通過させた場合，いずれも殺菌力が減退した。そして，pH 5 の場合よりも7の場合の方が，土壌の厚さが 1 *in* の場合よりも 2 *in* の場合の方が殺菌力の減退程度がより大であつた。水蒸気蒸溜したあとの液は菌糸にたいしては著しく殺菌力を失い，*F. oxysporum* および *R. solani* にたいしては原液ででも，*Ro. necatrix* にたいしては 1/5 の濃度の液でそれぞれ生育をゆるした。

第3表　ZENTMYER 氏法による木酢液の殺菌力検定

Table 3. Effects of pyroligneous acid on the mycelial growth of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix by* ZENTMYER's method.

イノキユラムの深さ Position of inoculum under soil surface	木酢液の濃度 Concentration of pyroligneous acid	菌糸の発育 Development of mycelia		
		F. oxysporum	*R. solani*	*Ro. necatrix*
2 (*in*)	1	+	+	+
	1/5	+	+	+
1	1	+	—	—
	1/5	+	+	+
0.5	1	—	—	—
	1/5	+	+	+
0.25	1	—	—	—
	1/5	+	—	—
	1/25	+	+	+

+……菌糸が発育したもの　Mycelia well developed.
—……菌糸が発育しなかつたもの　Mycelia not developed.

e. ZENTMYER 氏法の応用結果

ZENTMYER 氏法中の Drench 法の変法をもちいて，*F. oxysporum*，*R. solani*，*Ro. necatrix* に対する木酢液の殺菌力をしらべたが，第3表のような結果をしめした。菌糸の位置を 2 *in* の深さにした場合，木酢液はいずれの菌に対してもまつたく殺菌力をしめさなかつた。菌糸の位置を 1 *in* の深さにした場合には *F. oxysporum* は生きのび，*R. solani* および *Ro. necatrix* は死滅した。ZENTMYER[7] の原法では菌糸の位置を 1 *in* の深さにおいた場合を標準とし，各種薬剤をスクリーンしている。したがつて，土壌殺菌剤の検定法として ZENTMYER 氏法を採用してよいのならば，木酢原液は *F. oxysporum* にたいしては効果はないが，*R. solani* や *Ro. necatrix* にたいしては有効といえよう。菌糸の位置をより浅くした場合には殺菌力も多少増加した。すなわち，0.25 *in* の深さでは 1/5 の濃度でも *R. solani* や *Ro. necatrix* は死滅した。

全般を通じて，菌の種類がことなると，木酢液に対する反応もことなる傾向がみとめられ，*F. oxysporum* はもつとも抗抵力がつよく，*R. solani* はこれにつぎ，*Ro. necatrix* はもつともよわかつた。

以上の実験は土壌が風乾状態の下でおこなつたものであるが，土壌にあらかじめ充分水分をあたえ，同様な方法で実験をおこなつても大体同じ傾向をしめした。その結果は第4表のとおりであるが RUSHDI ら[5] も土壌の含水率が殺菌剤の効力にあまり影響しないことを報告している。なお，水分をあたえたのは木酢液施用の直前であつたが，1ガラス管びんあたり10 *cc* ずつの殺菌蒸溜水を灌注し，これらが完全に吸収されたのち，木酢液を注入した。

第4表　多湿土壌をもちいた ZENTMYER 氏法による木酢液の殺菌力

Table 4. Effects of pyroligneous acid on the mycelial development of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix* by ZENTMYER's method carried out with wet soil.

イノキュラムの深さ Position of inoculum under soil surface	木酢液の濃度 Concentration of pyroligneous acid	菌の発育 Development of mycelia		
		F. oxysporum	*R. solani*	*Ro necatrix*
(*in*) 1	1	+	+	+
	1/5	+	+	+
	1/25	+	+	+
0.5	1	−	−	−
	1/5	+	+	+
	1/25	+	+	+
0.25	1	−	−	−
	1/5	+	−	−
	1/25	+	+	+

+……菌糸がよく育したもの　　Mycelia well developed.
−……菌糸が発育しなかつたもの　　Mycelia not developed.

なお，各地から採取した土壌をもちいて，ZENTMYER 氏法をおこなつた結果は第5表にしめすとおりである。大体の傾向としては砂土の場合，木酢液の効果がよくあらわれ，壌土の場合は効果がややおちるようであつた。また，菌の種類によつて木酢液の効果もかなり違うようであつた。

第5表　各地の土壌をもちいた ZENTMYER 氏法による木酢液の殺菌力

Table 5. Effects of pyroligneous acid on the mycelial development of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix* by ZENTMYER's method carried out with various soils.

土壌採取地 Lcality of soils, tested	土性 soil Class	木酢液濃度 Conc. of Pyroligneous acid	菌の発育 (Development of mycelia) *F. oxysporum*	*R. solani*	*Ro. necatrix*
林試北海道支場苗畑	壌土	1	−	−	−
Hokkaido, in Northern Japan	Loam	1/5	+	±	−
青森営林署横浜苗畑	微砂質壌土	1	−	−	−
Aomori, in Northern Japan	Silt loam	1/5	+	+	−
仙台営林署原山綜合苗畑	砂質壌土	1	−	−	−
Sendai, in Northern Japan	Sandy loam	1/5	+	+	−
長野営林署柏原苗畑	壌土	1	+	−	−
Nagano, in Central Japan	Loam	1/5	+	+	−
林試京都支場苗畑	砂土	1	−	−	−
Kyôto, in Central Japan	Sand	1/5	±	−	−
林試高知支場苗畑	壌土	1	−	−	−
Kôchi, in South-west of Japan	Loam	1/5	+	−	−
山口市内山口県営苗畑	砂土	1	−	−	−
Yamaguchi, in Western Japan	Sand	1/5	±	−	−
林試宮崎支場苗畑	壌土	1	−	−	−
Miyazaki, in Southern Japan	Loam	1/5	+	+	−

＋……菌糸が発育したもの　Mycelia well developed.
±……菌糸が発育した場合もしなかつた場合もあるもの　Mycelia not developed, but some times developed.
－……菌糸が発育しなかつたもの　Mycelia not developed.

The inoculum was placed 0.5 in. below the soil surface

第6表　ZENTMYER 氏法によるウスプルンの殺菌力

Table 6. Effects of Uspulun on the mycelial development of *F. oxysporum*, *R. solani*, and *Ro. necatrix* by ZENTMYER'S method.

方法 Method	イノキュラムの位置 Position of inoculum under soil surface	ウスプルンの濃度 Conc. of Uspulun	菌の発育 Development of mycelia *F. oxysporum*	*R. solani*	*Ro. necatrix*
ZENTMYER 氏法 ZENTMYER's method	1 (*in*)	1/100	+	+	+
	0.5	1/100	+	+	+
	0.25	1/100	+	+	+
24時間液に浸漬 Immersed in solution for 24 hrs.		1/2,500	−	−	−
		1/12,500	+	+	+

＋……菌糸がのびたもの　Mycelia well developed.
－……菌糸が発育しなかつたもの　Mycelia not developed.

なお，対照薬剤としてウスプルンをもちい，ZENTMYER 氏法をおこなつたが第6表のような結果をしめした。(2) の (d) の方法によつて，菌糸をウスプルン水溶液中に24時間ひたし，よく水洗して発育の有無をしらべた場合には 2,500倍で3菌とも完全に殺されたが，ZENTMYER 氏法では菌糸を土壌表面下 0.25 *in* の浅いところにおき，濃度 1/100 という濃いウスプルン水溶液を灌注しても，3菌ともよく生きのびた。

5. 考　　察

木醋液は醋酸石灰，醋酸鉄，木精，防腐剤などの原材となるほか魚の液体燻製，肥料，飼料の製造，あるいは竹繊維の煮解などにもつかうことができるといわれている。また，はしがきでのべたように野原その他[4] は針葉樹の子苗の立枯病予防に効果のあることをしめした。伊藤および紺谷[2] は木醋液を殺菌剤とみなし，植物病原菌菌糸の発育を阻止あるいは致死させる最低濃度をもとめている。筆者らも木醋液を一応殺菌剤と仮定したが，いかなる成分が殺菌力に関係するか，あるいは最近考案された新らしい土壌殺菌剤検定法ではいかなる結果をしめすかなどを主な目的として実験をおこなつたものである。木醋液は各種の有機酸，アルコール，エステル，ケトン，アルデヒド，アミン，炭水化物など70種以上の成分からなるといわれ，原料，炭化の条件あるいは操作法によつて性状がことなるから，その殺菌力を解析といつても容易ではないが，本実験によつてあらましつぎのことがわかつた。すなわち，木醋液の揮発成分が，植物病原菌菌糸の発育を阻止する能力があること，およびこの菌糸の発育阻止力は木醋液と同酸量の醋酸水溶液のそれがしめす発育阻止力にほぼひとしいこと，木醋液の沈澱成分には殺菌力がまつたくみとめられないこと，殺菌力は溶解成分中（水洗しない沈澱物を菌糸にまぶしても菌は発育しないが，充分水洗した沈澱物をまぶすと菌はよくのびることから，おそらく水溶成分中）にあること，中和した木醋液は殺菌力がはなはだしく減少することから，殺菌力には含有酸性物質が大きく関与しているであろうこと，水蒸気蒸溜した残液は菌糸にたいしてほとんど殺菌力をしめさないことから，100°C 以下で溜出する成分が殺菌力（とくに菌糸にたいする殺菌力）に大きく関与することなどがわかつた。

しかし，ZENTMYER 氏法の応用結果ではさらに興味ある結果がえられた。まず第一に木醋液はウスプルンにくらべて，土壌中での殺菌力の減退程度がかなりすくないことがわかつたことである。すなわち，ウスプルンはその溶液中に菌糸を漬けた場合，1/2,500の濃度ですべての菌をころした。

しかし，ZENTMYER氏法では，この濃度の25倍の 1/100で 0.25 *in* の深さの菌をまつたく殺すことができなかつ。一方木醋液は，液中に菌糸を漬けた場合，1/125 の濃度では供試3菌すべての生存をゆるした。

しかし，ZENTMYER 氏法では 1/125 の 25 倍である 1/5 の濃度で 0.25 *in* の深さの *R. solani* や *Ro. necatrix*を殺している。有機水銀剤などが土壌中で吸着され，著しく効力を失うのにくらべて，フオルマリンやクロールピクリンが吸着されにくいことはよく知られたところであるが，木醋液もやや吸着されがたいといえるのではないだろうか。宇井[6] も異なつた実験法によつて同様な結果をみとめている。第2番目に木醋液は土性によつて効力がことなること，第3番目に菌糸を木醋液中に漬けた場合にもみとめられたことではあるが，植物病原菌の種類によつて，効力がことなることがわかつたことである。第2番目，第3番目の性質ももちろん木醋液だけに限つたものではないが，殺菌剤としての木醋液の特徴といえよう。土壌殺菌剤の検定法として ZENTMYER氏法には種々の批判はあるが，これらの事実は木醋液の実地実験の結果の相違をある点において説明しているように考えられる。すなわち，木醋液に不適当な土地，

木醋液に強い菌が優勢に棲息している土地，あるいはこの両方が重なつている土地などでは，木醋液の効果はあまり期待できない。効果のなかつた土地はこれらの条件のどれかにはいつていたのだと考えてよいのでなかろうか。さらに野原および陳野[4] は 1/800 の濃度，m^2 当り 3.2 l 散布のウスプルンよりも 1/5 の濃度，m^2 当り 8 l の木醋液の方が立枯病をよく防除したことを報告している。この事実も上述の実験結果によつてある程度説明できるであろう。

しかし殺菌剤が土壌病害を防除した場合においても，その効果は病原菌にたいする直接殺菌力によるのではなく，それがミクロフロラを変化せしめ，ミクロフロラの変化が病害を防ぐのだともいわれている。また，堆肥施用その他の土壌処理が病原菌の活動をおさえたり，病原菌を一時的に腐生的なものにしたりして，病害を防ぐことがあるともいわれている。ウスプルン液を散布した土壌を無菌土壌と仮定した点において批判の余地が残されてはいるが，蔵本その他[3] は木醋液が肥料的な効果をしめしたと報告している。したがつて立枯病の予防に木醋液の効果がみとめられる場合，あるいはみとめられない場合について，それが，土壌中のミクロフロラにたいして，どんな影響をあたえているか，あるいは木醋液の土壌や植栽樹種にたいしてあたえる影響が，病害の発生あるいは防除にいかに反映しているかなどについて研究することが必要であろう。

6. 摘　　要

1. 常温における木醋液の揮発成分，すなわち木醋液のにおいは *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* および *Rosellinia necatrix* の菌糸の発育を阻害した。

2. 常温，無処理の場合の木醋液の沈澱成分はこれらの菌の菌糸の発育に何ら阻害作用をしめさなかつた。

3. 木醋液そのもの，あるいは沈澱物を除いた木醋液は 1/125 の濃度でも *Alternaria kikuchiana*, *Cochliobolus miyabeanus* およびカラマツの立枯病をおこした *Fusarium* sp. (LK-18) の分生胞子の発芽を阻止した。しかし，NaOH で中和したり，1～2 *in* の厚さの土壌を通過させたりした木醋液，あるいは水蒸気蒸溜した木醋液の残液などは発芽阻止力が低下した。

4. 菌糸を24時間，液中に漬け，その後の生死をしらべた方法では，木醋液そのもの，あるいは沈澱物を除いた木醋液は *F. oxysporum*, *R. solani* および *Ro. necatrix* をそれぞれ 1/5, 1/25, 1/125 の濃度でころした。しかし，中和あるいは土壌をとおした木醋液あるいは水蒸気蒸溜した木醋液の残液などは殺菌力が低下した。とくに，水蒸気蒸溜した残液は原液区でも菌糸を殺すことができなかつた。

5. ZENTMYER 氏法中の Drench 法を多少変更して木醋液の殺菌力を検定した。菌糸の位置を 1 *in* の深さにした場合，木醋の原液は *R. solani* および *Ro. necatrix* を殺した。しかし *F. oxysporum* を殺すことはできなかつた。1/5 の濃度ではいずれの菌をも殺すことができなかつた。菌糸の位置が浅ければ殺菌力も増し，0.25 *in* の深さでは 1/5 の濃度でも *R. solani* および *Ro. necatrix* をころした。しかし，対照薬剤としたウスプルンは 1/100 の濃度でも，0.25 *in* の深さの 3 供試菌を殺すことができなかつた。

6. 同じく ZENTMYER 氏法によつて木醋液の殺菌力を各地の土壌につき調べたが，壌土よりも砂土の場合の方が殺菌力がつよくあらわれた。

文　　献

1) DORAN, W. L.: Acetic acid and pyroligneous acid in comparison with formaldehyde as soil disinfectants, Jour. Agr. Res., **44**, (1932) p. 571～578

2) 伊藤一雄・紺谷修治：樹木稚苗の立枯病について（I），立枯病菌の発育と殺菌剤濃度との関係，林試集報 60,（1951）p. 65～74.

3) 蔵本正義・津田耕治・庄田ツル：カラマツ肥料試験（第 8 報）木酢施用の幼苗成育におよぼす影響について，林試北海道支場業務報告，特別報告，5，(1956) p. 6～11
(KURAMOTO, M., TSUDA, K., SHODA, T.: Manure Examination for Larix (VIII), Studies on the effects of pyroligneous acid upon growth of *Larix Kamepferi* SARG. seedlings. Report of the Hokkaido Branch, Government For. Exp. Sta. Special Report, No. 5. (1956) p. 6～11)

4) 野原勇太・陳野好之：針葉樹稚苗の立枯病防除に関する研究（第 III 報），特に木酢液の効果について，日林誌，36,（1954）p. 31～37
(NOHRA, Y. and ZINNO, Y.: Experiments on the control of damping-off of conifer seedlings (III). With special referece to the effect of soil treatment with pyroligneous acid. Jour. Japanese For. Soc. **36**, (1954) p. 31～37)

5) RUSHDI, M. and JEFFERS, W.: Effects of some soil factors on efficiency of fungicides in controlling *Rhizoctonia solani*, Phytopath, **46**, (1956) p. 88～90

6) 宇井格生：畑作物の土壌（伝染性）病害，農薬の進歩（北海三共発行），2,（1956）p. 1～10

7) ZENTMYER, G. A.: A laboratory method for testing soil fungicides with *Phytophthora cinnamomi* as test organisms. Phytopath., **45**, (1955) p. 398～404

Fungicidal Effects of Pyroligneous Acid.

Takakiyo TERASHITA and Yoshiyuki ZINNO

(Résumé)

Introduction

Recently, NOHARA *et al*[4] reported that pyroligneous acid (PA) is effective against damping-off of conifer seedlings, though DORAN[1], formerly, had recognized PA as an effective soil disinfectant. But some workers could not control damping-off of conifer seedlings at the nursery with PA in 1954 in Yamagata Pref. and in Hokkaido, both in northern Japan, notwithstanding that they applied PA in the way similar to that of Nohara *et al*[4]. Nevertheless, it seems that there are too few laboratorical studies on the fungitoxicities of PA to discuss conclusively its damping-off control effects. Consequently, the present authors decided to test its toxicities upon some plant pathogens.

Materials and Methods

Effects of vapor of PA upon mycelial development of 3 root-rot fungi were tested as follows: Mycelial bits of test fungi were inoculated to malt extract agar in Petri dishes. Each dish was immediatly reversed, then PA was poured into the dish cover, through the gap between dish and dish cover. When PA covered all over the bottom of the reversed dish cover, it was regarded that vapor of PA acted enough upon the mycelia. Necessary dosage of PA was from 10 to 15 *cc* per one dish. Further, this dish was placed in a glass vessel, and on the bottom of this vessel, PA had been poured at the same concentration as it was poured into the bottom of the reversed dish. Concentrations of PA were, 1, 1/5 and 1/25.

For control, sterilized distilled water was used. Diameters of mycelial mats of the fungi were measured after a 7-day incubation. Root-rot fungi used in this experiment were *Fusarium oxysporum*, isolated from the root of lupin; *Rhizoctonia solani* (AM-1), isolated from seedlings of *Abies* sp. and *Rosellina necatrix* (R-1), isolated from the root of tea-shrub. At comparative expriments, grains of activated carbon, loaded on an watch glass, were placed into the Petri dish, together with PA to adsorb evaporated components of PA. Dosage of the grains of activated carbon was about 1 *gr* per one dish (Fig. 1). Furthermore acetic acid was tested as a comparative chemical at the concentrations of 2.86, 2.86/5, 2.86/25, 2.86/125 and 0 %. Adoption of these concentrations of acetic acid are based on the following fact that PA, the authors used, contained acid at 2.86% in weight so far as quantified as acetic acid. Test temperature was from 24 to 26°C. throuth the entire procedures and 3 replicates were used twice for every experimental item, thouth these conditions were adopted in following all experiments.

Fungitoxicities of sediments of PA were tested as follows: PA was filtered through filter paper and the paper to which sediments of PA adhered was dried in a desiccator. After 24 hours, the sediments were collected and crushed. Mycelial bits of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix* were dusted with the crushed sediments. After another day, these mycelial bits were washed well with sterilized distilled water and inoculated to malt extract agar. Mycelial development of these fungi was examined after a 3-day incubation. In some cases, sediments were washed well with distilled water prior to desiccation. As comparative dusting materials, Ceresan, crushed charcoal and kaolin powder were used.

Effects of PA upon the germination of conidia of some plant pathogens were tested by slide glass method. Plant pathogens of those conidia were used, are *Alternaria kikuchiana*, *Cochliobolus miyabeanus* (*Helminthosporium oryzae*) and *Fusarium* sp. (LK-18) which was isolated from seedlings of Japanese larch and is characterized by forming big *macro*-conidia. Germination rates were counted after an 8-hour incubation. Cocentrations of PA were 1, 1/5, 1/25 and 1/125. For control, sterilized distilled water was used. In order to determine what components in PA act as toxicants to plant pathogens, fungitoxicities of transfomed PA were studied by the germination tests. Procedures to transform PA were removal of sediment, neutralization of its acidity, filtering throth soil and steam distillation. Filtrates of PA through BERKEFELD filter tube were regarded as sediment-free. For neutralization of acidity, 5N NaOH was added to PA. First 5 *cc* of PA, passed fine loam that had been charged in a test tube in thinkness of 1 or 2 inches were used as "filtrates through soil". For the 4th treatment, 200 *cc* of PA were treated with steam for 5 hours and the residual degenerated liquid was used as test material.

Effects of PA upon mycelial developments of 3 root-rot fungi were studied. Mycelial disks, 10 *mm* in diameter were cut from the outer margin of agar cultures of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix* and they were immersed in various concentrations of PA. After 24 hours, they were washed well with sterilized distilled water and inoculated to malt extract agar. Mycelial development of the disks was examined after a 3-day incubation. Effects of transformed PA produced by the above-mentioned procedures upon these disks were studied also. Concentrations of PA and transformed PA were 1,1/5, 1/25 and 1/125. For control, sterilized distilled water was used.

Toxicities of PA upon the above-mentioned 3 root-rot fungi were studied by a variation of ZENTMYER's drench method. But, this modified method did not differ from the original except for the following additional treatment. A small hole was bored in the bottom of each glass vial having the same size as that used by ZENTMYER[7] and then the hole was plugged with absorbent cotton. The reason why the authors modified the method is based upon the frequent observation that the poured PA did not penetrate smoothly into the soil, owing probably to the reaction of pressed air below the soil.
PA was used at the concentrations of 1 and 1/5. Inocula were placed in soil at depths of 2, 1/2 and 1/4 *in* in addition to the depth of 1 *in*.

Results and conclusions.

Mycelial development of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix* was prevented by vapor action of PA. A noteworthy fact is that vapor of undiluted PA did not allow the inocula to make any development. But there was no big difference between the vapor action

of PA and that of acetic acid which contains a similar quantity of acid to the tested PA (Fig. 2).

Sediments of PA, washed with distilled water prior to drying showed no fungitoxicity, but unwashed sediments prevented the mycelial development of the fungi completely. Of comparative chemicals, Ceresan prevented the mycelial development of the fungi completely, but crushed charcoal and kaolin powder did not (Tab. 1).

Conidia of *Al. kikuchiana*, *Coch. miyabeanus* and *Fusarium* sp. (LK-18) could not germinate fully on crude or sediment-free PA at the concentration of 1/125. But they germinated fairly well on PA which was neutralized of its acidity or filtered through soil, and on the residual liquid of PA which was distilled with steam. Neutralization of PA reduced its germination inhibiting ability remarkably e. g. germination rates of conidia of *Al. kikuchiana*, *Coch. miyabeanus* and *Fusarium* sp. (LK-18) were 76, 91 and 84 % respectively even at the concentration of 1/5 of neutralized PA.

Mycelial disks of *F. oxysporum*, *R. solani* and *Ro. necatrix*, 10 *mm* in diameter were killed when they were immersed in crude or sediment-free PA for 24 hours at the concentrations of 1/5, 1/25 and 1/~~125~~ 15, respectively. But neutralization of acidity, filtering through soil and steam distillation also caused PA to lower its toxicities upon these disks. Of particular significance is the fact that the residual liquid after steam distillation showed scarcely any toxic effect upon any of the fungi at every concentration (Tab. 2).

Undiluted PA killed *R. solani* and *Ro. necatrix* but did not kill *F. oxysporm* in a modified ZENTMYFR's drench method (Tab. 3). But PA could not kill any of the 3 fungi at the concentration of 1/5. The shallower the inocula were placed, the more toxicities PA showed, i.e. PA killed all the fungal disks which were placed at the depth of 1/2 *in* and it killed *R. solani* and *Ro. necatrix* which were placed at the depth of 1/4 *in* at the concentration of 1/5. Uspulun, used as a comparative chemical, could not kill any of the fungi which were placed at the depth of 1/4 *in* even at the concentration of 1/100 (Tab. 6). And also it was shown that the fungitoxicity of PA is not influenced by difference of moisture content of the soil, but seems to be influenced by soil class i. e. effects of PA is stronger in sand than in loam, though these tendencies may not be brought about solely by PA (Tab. 4 and 5).

Judging from the results of these experments, the authors are of the opinion that (1) fungitoxicity of PA is associated with acid materials, perhaps evaporated in low temperature (within 100° C) because neutralization of acidity or steam distillation caused PA to lower its toxicities upon germination of conidia or development of mycelia, remarkably. (2) toxicity of PA upon mycelial development is not particulaly strong, but the material penetrates into soil fairly well within a limited deph so that it would be effective as a soil disinfectant in some cases. (3) negative results of PA upon damping-off of conifer seedlings in nurseries in Yamagata Pref. and Hokkaido may be interpreted to a certain degree by the result that mycelia of *F. oxysporum* showed more resistance to PA than did that of *R. solani* (AM-1) or *Ro. necatrix* (A-1) and by the fact that fusaria have been regarded as dominant damping-off fungi in these nurseries. Besides, KURAMOTO *et al*[3] reported that PA gave most desirable results for the top growth of Japanese larch seedlings in volcanogenous soils in comparison with the acetic, sulphuric acid and untreated, so the manure effects of PA must be considered. And, as is well known, the neceasity of an ecological approach for control of soil-borne diseases has been frequenty pointed

out, therefore, it will be also necessary to study the effects of PA upon microflora of soil.

Laboratory of Forest Pathology
Forest Protection Division
Government Forest Experiment Station
Meguro, Tokyo, JAPAN.